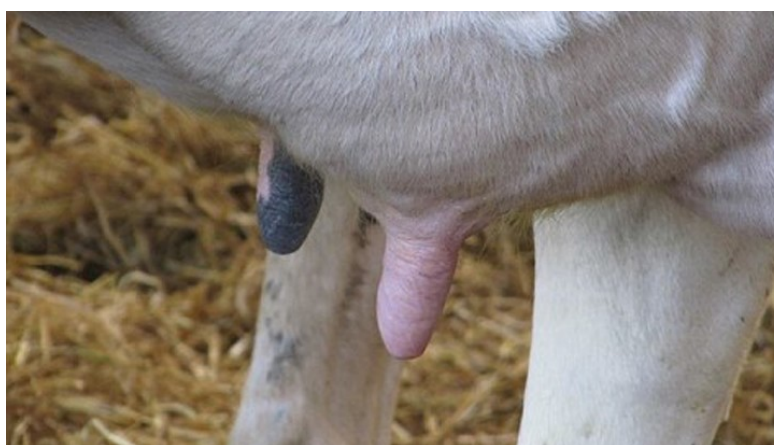


19/06/2019

## Aplicació de MALDI-TOF per a la identificació de patògens causants de mastitis en vaques lleteres



En aquest estudi es demostra com MALDI-TOF, un assaig basat en cultius, que facilita la identificació d'una gran varietat de bacteris que hagin estat aïllats, permet identificar i diferenciar les espècies NAS (*non-aureus staphylococci*) en mostres de llet recollides asèpticament de la mastitis bovina (infecció de les glàndules mamàries). Tanmateix, també demostra la necessitat d'altres assajos que confirmin la identificació precisa en mostres no làcties o ambientals.

La tècnica de MALDI-TOF ("*Matrix-assisted laser desorption /ionization time of Flight*") és un assaig dependent de cultiu, ràpid i fiable que permet identificar una gran varietat de bacteris aïllats. Funciona mitjançant l'ús d'excitació de proteïnes amb un làser per crear un patró de proteïnes d'espectre únic per a cada microorganisme. Aquesta tècnica es basa en l'adquisició directa d'impressions digitals de proteïnes a partir de microorganismes intactes, ja que aquests perfils varien considerablement entre els microorganismes. Els resultats són comparats amb milers d'espectres en una base de dades de referència i a partir de la qual, s'arriba a una identificació bacteriana. L'assaig proporciona una nova plataforma de diagnòstic que supera les limitacions dels diagnòstics tradicionals, que són laboriosos i requereixen molt de temps, i

elimina la necessitat de fermentació de sucres o l'ús de kits d'identificació. En els últims anys, els estudis d'investigació han demostrat que MALDI-TOF és una eina de diagnòstic potent i fiable per la identificació i discriminació dels patògens causants de mastitis en bestiar vaquí, incloent l'*Staphylococci non-aureus* (NAS) de mastitis bovina. En resultats previs d'estudis d'investigació s'ha vist que l'ús de l'assaig MALDI-TOF per la identificació de NAS a partir de la llet. Tanmateix, l'assaig mai ha estat investigat per la identificació de NAS de mostres ambientals o no làcties.

L'objectiu d'aquest estudi era validar la capacitat de tipificació de l'assaig MALDI-TOF per a la identificació i diferenciació d'espècies NAS de bovins en mostres de llet i mostres de pell dels mugrons asèpticament recol·lectades de ramats lleterers.

Per aquest estudi, es van seleccionar a l'atzar entre 14 i 20 vaques amb un elevat comptatge de cèl·lules somàtiques (indicador de mastitis) de 8 ramats lleterers. D'aquests animals es van recollir hisops de pell de mugrons i mostres de llet crua de les cambres del darrere dret i esquerre. Aquestes mostres es van recollir de forma asèptica per a la seva identificació preliminar utilitzant el cultiu bacterià. Les colònies de mostres amb sospita clínica de tenir NAS es van identificar a nivell d'espècie mitjançant MALDI-TOF.

Dels 511 aïllats de 142 vaques, el 78% (n = 399) van ser identificats per MALDI-TOF. El percentatge de NAS correctament identificades a partir de mostres de llet (91%, 105/115) amb MALDI-TOF va ser major que el percentatge de la pell dels mugrons (68%, 268/396). Dels aïllats identificats, el 93% (n = 373) es van identificar amb èxit com NAS, mentre que els 26 restants (7%) van mostrar ser altres espècies bacterianes. D'aquests 26 aïllaments diferents, 1 es va originar a partir de llet (*Corynebacterium stationis*), mentre que 25 es van originar a partir de pell de mugró: *Aerococcus viridans* (n = 7), *Bacillus pumilus* (n = 13), *Enterococcus saccharolyticus* (n = 1), *Clostridium septicum* (n = 1), *Corynebacterium stationis* (n = 2) i *Corynebacterium casei* (n = 1). El MALDI-TOF va identificar 85 (98/115) i 62% (245/396) dels aïllats en la primera prova. Els aïllats que no es van identificar a nivell d'espècie en la primera prova es van sotmetre a una segona prova i es van identificar 47 (8/17) i 32% (48/151) de pell de llet i mugró, respectivament. Després de 2 rondes de MALDI-TOF, el 22% (n = 112) dels aïllaments no es van identificar, el que representa 103 de la pell dels mugrons i 9 de la llet. 18 aïllaments sense identificació per MALDI-TOF es van identificar amb èxit a nivell d'espècie mitjançant la seqüenciació, on 16 es van identificar correctament com NAS, mentre els altres dos van resultar ser *Corynebacterium stationis*.

Els nostres resultats indiquen que MALDI-TOF és una eina útil per la identificació i tipificació de les espècies NAS a partir de mostres de llet però no és tan útil per la identificació d'aïllats de mostres no làcties. A més, tant en la primer com segona ronda, el rendiment de MALDI-TOF per a la identificació dels aïllats procedents de la llet (85 i 47%) va ser més gran que no pas per als procedents de la pell dels mugrons (62 i 32%). Una possible explicació és que aquests bacteris no identificats de la pell dels mugrons provenen de la seva microbiota natural (bacteris comensals), les quals no havien estat incloses prèviament a la base de dades BDAL (Brujker Daltonics); com no interessen als diagnòstics microbiològics no van ser considerats en la base de dades del MALDI-TOF. A més, els nostres resultats van mostrar que la gran majoria dels aïllaments de NAS no identificables s'originaven a partir de la pell dels mugrons. Una explicació raonable podria ser que aquests aïllaments són noves espècies de NAS. Una altra raó és que aquests aïllaments podrien ser espècies NAS conegudes però no estaven incloses a la base de

dades BDAL. Cal tenir en compte que els aïllaments de NAS originats en la pell dels mugrons requereixen de rondes extra per a la seva identificació amb MALDI-TOF en comparació amb aquells originats a partir de la llet. Aquest fenomen es basa en l'alt número d'aïllats a partir de la pell de mamella que segueixen sense identificar després de la primera i segona ronda d'identificació. Una possible explicació podria ser que els bacteris aïllats de l'ambient podrien haver desenvolupat un capa extra o una càpsula amb material proteic com un mitjà de protecció contra condicions ambientals desfavorables.

Concloem que MALDI-TOF és un assaig fiable per la identificació i diferenciació de les espècies NAS de mostres de llet recol·lectades asèpticament. L'assaig podria ser utilitzat per la identificació de les espècies de NAS a partir d'hisops de pell de mugrons, però la confirmació amb eines basades en àcids nucleics és vital per la identificació precisa d'algunes espècies i soques.

Aquest estudi va ser part del projecte d'investigació "STOPMAST" finançat per la Danish Milk Levy Foundation (Aarhus, Dinamarca). A més, el Dr. Yasser Mahmmod va gaudir d'una beca del Programa de Beques Postdoctorals de Mèrit (IDB-MSP), Banc de Desenvolupament Islàmic, Jeddah, Aràbia Saudita.

**Yasser Mahmmod**

CRSA

Universitat Autònoma de Barcelona

[Yasser.Mahmmod@uab.cat](mailto:Yasser.Mahmmod@uab.cat)

## Referències

[View low-bandwidth version](#)